

アミノシクロピラクロール分析法（畜産物）

1. 分析対象化合物

・アミノシクロピラクロール

2. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計（LC-MS/MS）

3. 試薬、試液

アミノシクロピラクロール : 分析用標準品
アセトニトリル、メタノール、水 : HPLC 用
水酸化アンモニウム、ギ酸 : 特級
混合モード陽イオンミニカラム : Oasis MCX（Waters 製）

4. 試験溶液の調製

1) 抽出

試料 5.0 g をアセトニトリル及び 0.1%ギ酸（9 : 1、v/v）混液 40 mL を加えてホモジナイズし、遠心分離にて上清を回収する。組織（筋肉、肝臓、腎臓及び脂肪）は割合の異なる（7 : 3、1 : 1、v/v）アセトニトリル及び 0.1%ギ酸混液で順次抽出する。抽出液を合わせ、0.1%ギ酸水溶液で 100 mL にする。溶出液 1 mL を分取し、40 °C 以下で 0.25 mL 以下（筋肉）あるいは 0.5 mL（筋肉以外の試料）まで濃縮し、0.2%ギ酸水溶液 6.0 mL に溶解する。筋肉以外の試料ではこれを試験溶液とする。

2) 精製

（筋肉の場合）

MCX ミニカラムにメタノール 3 mL と 0.01%ギ酸水溶液 6 mL（2 回）を注入し、流出液は捨てる。このミニカラムに 1) で得られた抽出液を注入する。0.2%ギ酸水溶液 2 mL で 2 回サンプル容器を洗浄し、洗浄液をミニカラムに注入する。その後、メタノール 5 mL でミニカラムを 2 回洗浄する。ミニカラムに、75 mM 水酸化アンモニウム水溶液 5 mL を 1 mL/分の流速で 3 回注入し、流出液を 0.2%ギ酸水溶液 1 mL を加えた採集管に集める。溶出液をよく混合し、40 °C 以下で 1~2 mL になるまで濃縮し、0.01%ギ酸水溶液 12.5 mL に溶解し、試験溶液とする。

5. 検量線の作成

アミノシクロピラクロール標準品をメタノールに溶解し、100 µg/mL の標準原液を調製する。調製した標準原液を 0.01%ギ酸水溶液で希釈して数点の検量線用標準溶液を調製し、それぞれ LC-MS/MS に注入し、ピーク面積法で検量線を作成する。

6. 定量

試験溶液を LC-MS/MS に注入し、5. の検量線を用いて含量を定量する。

7. 測定条件

(例)

装置 : HPLC ; Agilent 1100 (Agilent Technologies 製)
: MS ; Waters Micromass Q-ToF *micro* mass spectrometer
(Waters 製)
カラム : Luna Phenyl Hexyl, 粒径 ; 3 μ m 2.0 mm i.d.×150 mm
(Phenomenex 製)
カラム温度 : 40 °C
移動相 : 移動相 A : メタノール
移動相 B : 0.01 mol ギ酸水溶液

グラジエント
プログラム :

時間(分)	0.0	5.0	8.0	10.0	10.1	14.5
移動相 A(%)	5	59	99	99	5	5
移動相 B(%)	95	41	1	1	95	95

流量 : 0.4 mL/min

注入量 : 30 μ L

保持時間の目安 : 約 8.4 分

イオン化モード : ESI (+)

イオン検出法 : MRM 法

モニタリング
イオン :

	ブリークサーイオン (<i>m/z</i>)	ブロッカトイオン (<i>m/z</i>)
アミノシクロピラクロル	228.1	68.2

8. 定量限界

0.01 ppm

9. 添加回収試験を実施した食品

牛の乳、牛の筋肉、牛の肝臓、牛の腎臓、牛の脂肪

10. 留意事項

特になし

※ 本分析法は、畜産物における残留試験等において用いられた残留農薬等分析法であり、新たな試験法の開発等に際して参考として下さい。なお、当該分析法をもとに開発した試験法を食品規格への適合判定のために使用する場合には、「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について（平成 22 年 12 月 24 日薬食発 1224 第 1 号）」に従って使用する試験法の妥当性を評価する必要があります。